

Efecto de la congelación sobre la calidad del músculo abductor de callo de hacha *Atrina maura* y *Atrina tuberculosa*

María de la Cruz Paredes Aguilar*¹, Etna Aída Peña Ramos², Lorena Olivia Noriega Orozco¹, Lizbeth Karina Rivero Montes¹, Olga Janeth Córdova Murillo¹ & Mario Israel Rojo Amaya³

Resumen

En México, la extracción de callo de hacha (*Atrina maura* y *A. tuberculosa*) en el área de Bahía de Kino, Sonora se ha intensificado en los últimos años, ya que este producto cada vez tiene mayor demanda en el mercado nacional porque es muy apreciado por su tamaño y sabor. Sin embargo, no se cuenta con una regulación específica de este recurso, por lo que es importante realizar más estudios relacionados con su calidad. Además, el producto se maneja y distribuye en estado fresco-enhielado, lo cual limita su comercialización a otros mercados. En este estudio se determinó el efecto del almacenamiento en congelación a -18°C sobre la calidad de las especies de callo de hacha *Atrina maura* y *A. tuberculosa*. Mensualmente se midieron los parámetros de pH, actividad de agua, humedad, nitrógeno volátil total, color y textura, así como la concentración de bacterias psicrófilas, psicotróficas, mesofílicas aerobias, coliformes y productoras de ácido sulfhídrico durante un periodo de seis meses. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de una sola vía, con un nivel de significancia al 0.05. Al final de la vida de anaquel, solo se presentó una ligera disminución en el pH (6.20) de ambas especies de callo y aun cuando la textura de *A. tuberculosa* se vio afectada

Abstract

In México in the last years, the extraction of hacha scallops (*Atrina maura* y *A. tuberculosa*) in the Kino Bay area of Sonora desert has intensified due to its increasing demand in the National market because of its generous size and flavor. Nevertheless, there is no official evaluation about this shellfish, so it is important to most studies related to quality. Currently, hacha scallops are handled and distributed fresh in ice restraining its commercialization to more distant markets. In order to extend the distribution and shelf life of hacha scallops, the objective of this study was to determine the effect of freeze storage at -18°C on the quality parameters of two hacha scallops species *Atrina maura* and *Atrina tuberculosa*. Monthly during a 6 month storage period, the physico-chemical quality parameters such as pH, water activity, humidity, total nitrogen volatiles, color and texture were measured, as well as, the counts of psychrophilic, psychrotrophic, aerobic mesophilic, coliforms and sulphidric-acid-producer bacteria. A one-way analysis of variance was performed to establish the effect of storage time at significance level of 0.05. At the end of freeze shelf life, only a slight, although significant reduction of pH (6.20) was found for both scallop species. Even though *A. tuberculosa* texture (721.53 a 400.28

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Coordinación Regional Guaymas. Carretera al Varadero Nacional km 6.6, Col. Las Playitas, Guaymas, Sonora, México, 85480.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Carretera a la Victoria km 0.6, Hermosillo, Sonora, México, 83304.

³Comunidad y Biodiversidad, A. C. Calle Isla del Peruano 215, Col. Lomas de Miramar, Guaymas, Sonora, México, 85448.

* Autor de correspondencia: mparedes@ciad.mx

significativamente ($p < 0.05$) en un inicio por la congelación (721.53 a 400.28 g-f), ésta se mantuvo estable durante el resto del almacenamiento. Además, el almacenamiento en congelación ayudó a disminuir la concentración de bacterias psicofílicas (< 10 UFC/g) y productoras de H_2S (< 40 UFC/g) en ambas especies. En general, los resultados indicaron que la congelación puede ser una buena alternativa para prolongar la vida de anaquel del callo de hacha, lo que permitiría su comercialización en lugares más alejados.

Palabras clave: moluscos bivalvos, vida de anaquel, almacenamiento.

g-f) was affected by freezing ($p < 0.05$), it remained stable during storage ($p > 0.05$). Moreover, freezing storage was able to reduce ($p < 0.05$) psychrophilic (< 10 UFC/g) and H_2S -producer bacteria counts (< 40 UFC/g) in both scallop species. These results indicated that freezing storage can be a good alternative for hacha scallops commercialization, allowing a broader distribution to reach distant markets with a good quality and a long shelf-life.

Key words: shellfish, scallops, shelf-life, storage.

Introducción

En México, la extracción de callo de hacha ha aumentado en los últimos años debido a su gran demanda en el mercado nacional, siendo Sonora uno de los principales estados que explota este tipo de molusco bivalvo en el área de Bahía de Kino, donde se extraen principalmente las especies *Atrina maura* y *A. tuberculosa* Sowerby, 1835, las cuales son conocidas comúnmente como callo de hacha “redondo” y callo de hacha “riñón”, respectivamente. Este recurso es muy apreciado por su tamaño y delicado sabor; sin embargo, no se ha realizado una evaluación oficial de este molusco y no cuenta con alguna especificación que regule su calidad (Rodríguez 2004, Serrano-Guzmán 2004, Moreno *et al.* 2005). La calidad inicial de los productos marinos depende principalmente del medio ambiente, la temperatura del agua, la zona de captura y el manejo posterior a su captura (Broekaert 2011). La pérdida de calidad está asociada a diferentes factores o cambios bioquímicos que se presentan en el animal una vez muerto, los cuales pueden ser provocados por las enzimas propias del organismo o por enzimas bacterianas que deterioran el tejido o músculo, por lo que las condiciones de manejo del producto desde su captura hasta su venta, juegan un papel muy importante en su calidad (Ocaño-Higuera *et al.* 2001, Koutsoumanis *et al.* 2002, Broekaert *et al.* 2011). Los procesos de preservación temporal (refrigeración o enhielado)

o de conservación prolongada como la congelación, tienen un efecto importante sobre los aspectos de calidad total de los moluscos (Cabello *et al.* 2004), la cual es determinada mediante métodos químicos, físicos, microbiológicos y sensoriales; no obstante, ningún método aislado es suficiente para evaluar la pérdida de frescura y el deterioro microbiano, por lo que estos métodos en conjunto ayudan a establecer la calidad global de estos productos (Massa 2006). Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar las variaciones en la calidad de dos especies de callo de hacha (*A. maura* y *A. tuberculosa*) durante su almacenamiento en congelación a -18°C .

Material y métodos

Muestreo

Los especímenes de callo de hacha (*Atrina maura* y *Atrina tuberculosa*) fueron extraídos por buzos comerciales en la zona costera del municipio de Hermosillo, Sonora, México: $28^\circ 37' 00''\text{N}$, $108^\circ 38' 00''\text{W}$. Las muestras (músculo abductor), limpias y separadas de sus conchas por el personal de pesca, fueron recibidas en la zona de playa a una temperatura promedio de 30°C y empacadas en bolsas plásticas estériles, las cuales inmediatamente fueron sometidas a enfriamiento, para disminuir su temperatura a 4°C durante cuatro horas aproximadamente. Las muestras fueron recibidas en el laboratorio a una temperatura

de 1°C y subdividas en bolsas estériles e inmediatamente congeladas a -18°C para llevar a cabo los análisis microbiológicos y fisicoquímicos durante el periodo de almacenamiento (seis meses). Para la realización de los análisis, las muestras fueron previamente descongeladas en refrigeración (4°C) durante 18 horas. Para establecer la calidad inicial de las dos especies de callo, se establecieron grupos control, los cuales fueron analizados el mismo día en que fueron recibidos en el laboratorio, sin someterse al proceso de congelación.

Análisis microbiológicos

Se cuantificaron las bacterias mesofílicas, psicotróficas, psicofílicas y productoras de ácido sulfhídrico (H₂S) como unidades formadoras de colonias por gramo de alimento (UFC/g) mediante el método de vaciado en placa. La cuenta total de las bacterias psicofílicas y mesofílicas aerobias, fue determinada por el método de prueba establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, inoculándose por duplicado diluciones decimales en placas con agar para cuenta en placa, las cuales se incubaron durante siete días a 5 ± 2° C y a 35 ± 2° C por 48 h respectivamente (DOF 1995). Para la cuantificación de las bacterias psicotróficas aerobias, se inocularon por duplicado una serie de diluciones decimales en placas con agar Long&Hammer (LH), las cuales fueron incubadas a 20 ± 2° C durante cuatro días (Normark *et al.* 2008). Para el conteo total de las bacterias productoras de H₂S se inoculó una serie de placas con agar peptona hierro (PIA), las cuales fueron incubadas a 20 ± 2° C durante cuatro días e identificadas por la presencia de una coloración negra debida a la precipitación del sulfuro de hierro (Massa 2006). Las bacterias del grupo coliformes (totales y fecales) fueron cuantificadas como número más probable en 100 gramos de alimento (NMP/100 g) con base en el método establecido en el Manual Analítico Bacteriológico (FDA 2010). Para ello, se prepararon tres diluciones decimales, de las cuales se transfirió un volumen de 1 mL a un triplicado de tubos conteniendo 10 mL de caldo lauril triptosa (CLT), para posteriormente ser

incubados a 35 ± 2° C durante 48 horas. La confirmación de los coliformes totales se realizó en tubos conteniendo caldo lactosa bilis verde brillante (CLBVB) incubados a 35±2°C por 48 horas y en tubos con caldo para *Escherichia coli* (EC) para los coliformes fecales, los cuales fueron incubados en baño de agua a 44.5°C por 48 horas (Feng *et al.* 2010).

Análisis fisicoquímicos

De acuerdo a la metodología descrita en el apéndice normativo B de la NOM-242-SSA1-2009, los valores de pH fueron obtenidos por medición directa del homogenizado acuoso del músculo abductor de callo de hacha (relación 1:1), utilizando un potenciómetro Denver UB10 y el contenido de nitrógeno volátil total (NVT), expresado en mg/100g, fue determinado mediante la destilación de la muestra con óxido de magnesio y su posterior titulación (DOF 2011). Para el porcentaje de humedad, el músculo de callo fue sometido a secado en estufa a 100 - 105 °C durante 4 horas, según lo descrito en el método de prueba de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, por sus siglas en inglés) (AOAC 2005). La medición de la actividad de agua (Aw) se realizó por lectura directa en un equipo Aqualab Serie 3, para lo cual se utilizaron láminas delgadas de la muestra que cubrieron completamente el fondo del platillo contenedor (Aqualab 2009). La textura se determinó instrumentalmente en gramos-fuerza (g-f), por medio de compresión al 90% en un texturómetro TA.XT PLUS modelo 1132, dotado de un aditamento P/5S de acero inoxidable de 5 mm. Las muestras se cortaron a una dimensión de 2x2x1 cm y se realizó la penetración en forma paralela a la fibra muscular siguiendo la metodología descrita por Ocaño-Higuera (1999). El color del producto se determinó mediante colorimetría tri-estímulo empleando un espectro-colorímetro Konica Minolta Lab., en el cual se registraron los parámetros de L* (luminosidad), a* (-a: tonos verdes, +a: tonos rojos) y b* (-b: tonos azules, +b: tonos amarillos). Durante las mediciones, el objetivo del equipo se colocó en la parte más ancha y más delgada de ambos lados de las piezas de callo (Ocaño-Higuera 1999).

Análisis estadístico

Los datos analíticos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de una sola vía, donde el parámetro de variación fueron los meses de almacenamiento, con un nivel de significancia del 0.05. Se utilizó el programa JMP, versión 9.02, del paquete estadístico SAS 2010 y el programa NCSS específicamente para los datos de textura y color. Para aquellos parámetros donde se detectaron diferencias significativas por el tiempo de almacenamiento, se realizó adicionalmente una prueba de comparación de medias (Tukey) al mismo nivel de significancia.

Resultados

Análisis microbiológico

Las cuentas totales de bacterias aerobias para el callo redondo (*Atrina maura*) se muestran en la Figura 1. En lo que respecta a las bacterias mesofílicas, la carga inicial en el producto fresco fue de 3.79 log (6,200 UFC/g), la cual disminuyó durante los primeros 5 meses, presentándose la menor concentración (210 UFC/g) en el quinto mes del estudio, aumentando significativamente ($p < 0.05$) a 5.26 log (180,000 UFC/g) en el sexto mes de almacenamiento. La concentración inicial de las bacterias psicotróficas fue de 3.57 log (3,700 UFC/g), con cambios significativos ($p < 0.05$)

a partir del segundo mes de almacenamiento, donde la carga bacteriana aumentó a 4.88 log (75,000 UFC/g) para posteriormente disminuir durante los siguientes 3 meses, para finalmente aumentar a 5.35 ciclos logarítmicos en el sexto mes de almacenamiento. Al inicio del estudio (control) se cuantificaron 20 UFC/g de bacterias psicofílicas (1.3 log), cantidad que fue aumentando significativamente ($p < 0.05$) hasta el cuarto mes de congelación, que fue cuando se obtuvo la máxima concentración (3.34 log) de estas bacterias, pues durante el quinto y sexto mes ya no se presentó crecimiento. Las bacterias productoras de H_2S no fueron detectadas en el producto fresco, pero para el primer mes en congelación se cuantificó una concentración de 1.65 log (45 UFC/g) en el producto congelado, las cuales se detectaron posteriormente solo durante los meses 2 y 5 en las mismas cantidades (5 UFC/g). Para esta especie de callo (*A. maura*), los coliformes totales fueron cuantificados durante el cuarto mes de almacenamiento (360 NMP/100 g) y no se detectó la presencia de coliformes fecales durante todo el periodo en congelación (Tabla 1). Para la especie *A. tuberculosa*, los resultados (Fig. 2) mostraron que las concentraciones de bacterias mesofílicas y psicotróficas aerobias detectadas al inicio del estudio estuvieron en el intervalo de los 5 log (170,000 y 110,000 UFC/g respectivamente), con variaciones significativas ($p < 0.05$) durante todo el periodo en

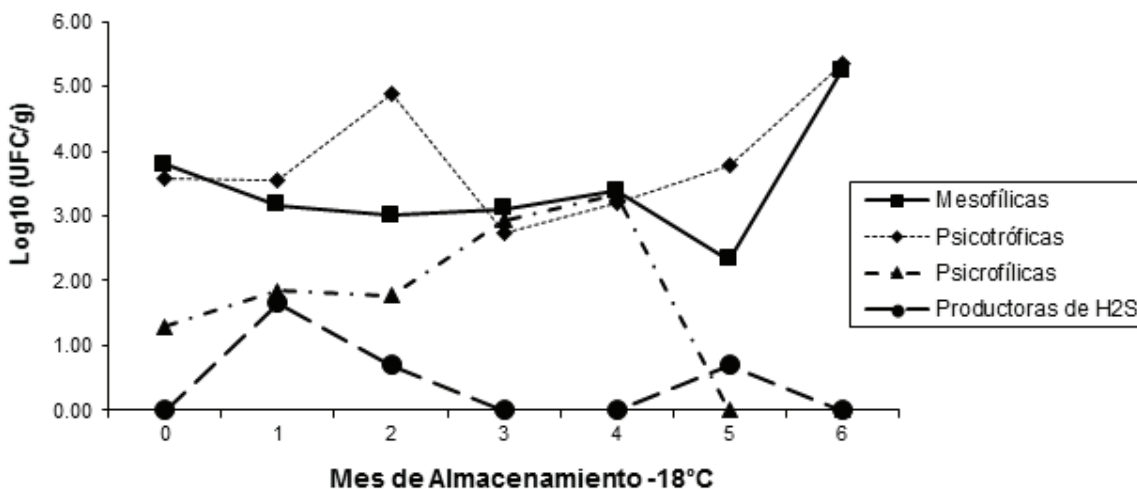


Figura 1. Conteo total de bacterias aerobias en callo de hacha redondo (*Atrina maura*) durante su almacenamiento en congelación a -18 °C.

que *A. tuberculosa* estuvo en congelación. Para el producto fresco y durante el primer mes de almacenamiento se detectó un bajo contenido de bacterias psicrófilas (2.63 y 2.04 log respectivamente), concentraciones que aumentaron significativamente ($p < 0.05$) durante el segundo (5.08 log) y tercer mes de estudio (4.78 ciclos logarítmicos); Sin embargo, a partir de este periodo la congelación provocó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el contenido de estas bacterias. La concentración inicial (control) de las bacterias productoras de H_2S fue de 2.92 log (840 UFC/g), cantidad que disminuyó significativamente ($p < 0.05$) a partir del primer mes en que el producto fue

almacenado en congelación, cuantificándose un contenido de 35 UFC/g para el sexto mes (Fig. 2). La concentración de bacterias coliformes (Tabla I) varió significativamente ($p < 0.05$) por efecto de la congelación durante los seis meses de almacenamiento. Al inicio del estudio, (grupo control), se detectó una cantidad de coliformes totales de 24,000 NMP/100 g y de 2,300 NMP/100 g para coliformes fecales, valores que disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) durante los meses de estudio, pues para el sexto mes se cuantificó una concentración de 2,300 NMP/100 g de coliformes totales y 360 NMP/100 g de coliformes fecales, encontrándose una correlación positiva entre los dos tipos de coliformes.

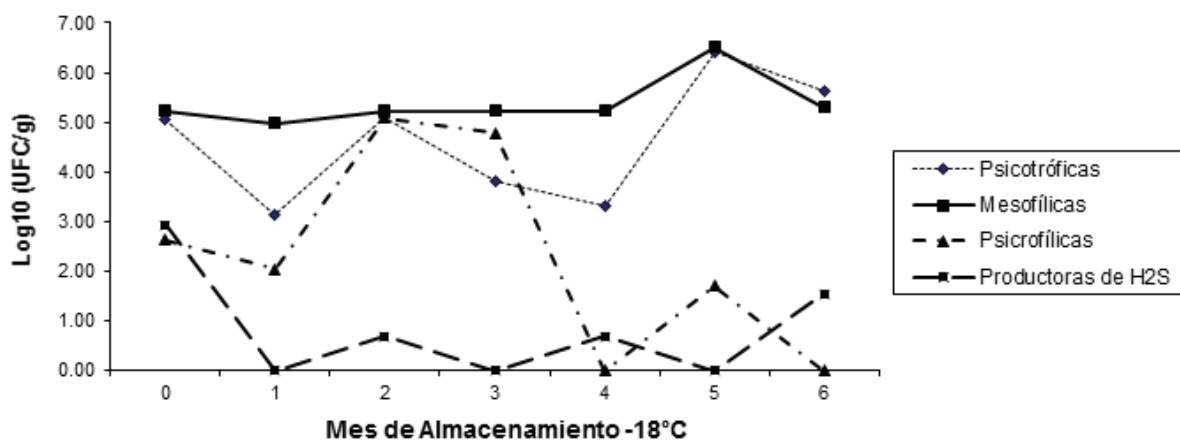


Figura 2. Conteo total de bacterias aerobias en callo de hacha riñón (*Atrina tuberculosa*) almacenado a -18°C .

Tabla I. Contenido de coliformes totales y fecales en las especies de callo de hacha redondo *Atrina maura* y *A. tuberculosa* durante su almacenamiento a -18°C .

Mes	Coliformes (NMP/100 g)			
	Totales	Fecales	Totales	Fecales
	<i>A. maura</i>		<i>A. tuberculosa</i>	
0	<3.0	<3.0	24,000 ^a	2,300 ^a
1	<3.0	<3.0	4,300 ^b	730 ^a
2	<3.0	<3.0	3,900 ^c	910 ^a
3	<3.0	<3.0	910 ^e	360 ^b
4	360	<3.0	2,300 ^d	910 ^a
5	<3.0	<3.0	4,300 ^b	1,500 ^a
6	<3.0	<3.0	2,300 ^d	360 ^b

<3.0 = Valor no detectable de la bacteria a partir de la mínima dilución inoculada (10^{-1})
Valores de una misma columna con literales distintos, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Análisis fisicoquímicos

La especie *Atrina maura* presentó cambios significativos ($p < 0.05$) por efecto de la congelación (Tabla II) en lo que respecta al pH y al nitrógeno volátil total (NVT). El valor inicial de pH fue de 6.54 ± 0.02 , el cual disminuyó durante todo el periodo de almacenamiento, obteniéndose finalmente un valor de 6.19 ± 0.02 al sexto mes del estudio. El contenido inicial de NVT (5.70 ± 0.07 mg/100g) aumentó conforme transcurría el periodo de almacenamiento, con cambios significativos ($p < 0.05$) a partir del segundo mes (8.74 ± 0.25 mg/100g) de estudio hasta llegar a un contenido final de 13.99 ± 0.11 mg/100g. En la Tabla II se puede observar que la textura (g-f), la actividad de agua (Aw) y el contenido (%) de humedad para el callo redondo no fueron afectados de forma significativa ($p < 0.05$) durante los seis meses de almacenamiento. Con respecto a los parámetros de color obtenidos para *A. maura*, en la Tabla III se puede observar que, durante el periodo de almacenamiento, la luminosidad o valor L no cambió significativamente ($p > 0.05$) para este tipo de callo. Los valores de a^* fueron positivos (tonalidades rosadas) solo al inicio del estudio, disminuyendo sin cambios significativos ($p < 0.05$) hasta el quinto mes; sin embargo, al final del almacenamiento el valor de a^* (-0.805 ± 0.23)

fue significativamente menor ($p < 0.05$) con respecto al valor obtenido para el producto fresco (0.047 ± 0.101). Los valores de b^* fueron positivos (tonalidades amarillas) durante todo el periodo en congelación, los cuales fueron incrementando hasta el final del estudio (6.28 ± 0.423), mes en que se obtuvo una tonalidad significativamente diferente ($p < 0.05$) con respecto a la muestra control (2.69 ± 0.338). Para el callo de hacha riñón (*A. tuberculosa*), en la Tabla IV se puede observar un aumento significativo en el pH ($p < 0.05$) durante los dos primeros meses en congelación; no obstante, a partir del tercer mes los valores fueron disminuyendo significativamente ($p < 0.05$), hasta obtener un pH de 6.20 ± 0.02 al sexto mes de almacenamiento. El contenido de humedad y la Aw no se vieron afectados durante el presente estudio; sin embargo, el contenido de NVT sí fue afectado significativamente ($p < 0.05$) durante todo el periodo en congelación; en el producto sin tratamiento se obtuvo un contenido de 6.29 ± 0.08 mg/100g que fue variando hasta un valor final de 13.95 ± 0.18 mg/100g. Los meses en congelación afectaron significativamente ($p < 0.05$) la textura del callo riñón, observándose desde el primer mes de almacenamiento (400.28 ± 45.07 g-f) una pérdida considerable de textura (45 %) en relación al producto fresco (721.53 ± 55.69 g-f).

Tabla II. Análisis fisicoquímico de callo de hacha (*Atrina maura*) durante su almacenamiento a -18°C .

Mes	pH	Humedad (%)	Actividad de agua	Nitrógeno volátil total (mg/100g)	Textura (g-f)
Control	6.54 ± 0.02^a	69.98 ± 0.20	0.9856 ± 0.001	5.70 ± 0.07^a	441.30 ± 32.99
1	6.28 ± 0.01^b	70.79 ± 0.08	0.9850 ± 0.001	6.25 ± 0.06^a	339.45 ± 23.51
2	6.31 ± 0.02^b	70.69 ± 1.00	0.9836 ± 0.001	8.74 ± 0.25^b	363.60 ± 15.00
3	6.30 ± 0.01^b	71.41 ± 0.35	0.9886 ± 0.001	10.10 ± 0.19^c	331.54 ± 24.09
4	6.23 ± 0.01^c	69.70 ± 0.43	0.9860 ± 0.001	10.66 ± 0.77^c	329.26 ± 19.53
5	6.21 ± 0.02^{cd}	70.30 ± 0.03	0.9873 ± 0.001	13.96 ± 0.21^d	341.80 ± 20.59
6	6.19 ± 0.02^d	69.55 ± 0.73	0.9883 ± 0.002	13.99 ± 0.11^d	401.47 ± 15.06

Medias de una misma columna con literales distintos, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Con respecto a los cambios de color obtenidos para esta especie de callo (Tabla V), la luminosidad y el parámetro de b* no presentaron cambios significativos ($p < 0.05$) por efecto del tiempo de almacenamiento; no obstante, las coloraciones establecidas por los valores de

a* presentaron tonalidades grisáceas (valores cercanos a cero) al inicio del estudio, tornándose verdosas conforme transcurrió el periodo de almacenamiento, aunque estos cambios no resultaron significativos ($p > 0.05$) durante los primeros cuatro meses en congelación.

Tabla III. Parámetros de color obtenidos para callo de hacha redondo (*Atrina maura*) almacenado a -18°C .

Mes	Valor L*	Valor a*	Valor b*
Control	59.45 ± 0.666	0.047 ± 0.101 ^a	2.69 ± 0.338 ^a
1	61.35 ± 0.694	0.202 ± 0.131	5.11 ± 0.313
2	61.24 ± 0.862	-0.315 ± 0.198	4.79 ± 0.476
3	63.42 ± 0.484	-0.466 ± 0.166	4.78 ± 0.421
4	61.62 ± 1.891	-0.361 ± 0.235	5.79 ± 0.523
5	62.49 ± 0.652	-0.550 ± 0.186	6.00 ± 0.446
6	62.56 ± 0.661	-0.805 ± 0.230 ^b	6.28 ± 0.423 ^b

Media de los valores calculados a partir de 10 unidades experimentales ± error estándar.
Medias de una misma columna con literales distintos son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Tabla IV. Análisis fisicoquímico realizado en callo de hacha (*Atrina tuberculosa*) almacenado a -18°C .

Mes	pH	Humedad (%)	Aw	NVT (mg/100g)	Textura (g-f)
Control	6.31 ± 0.01 ^a	70.07 ± 0.13	0.986 ± 0.001	6.29 ± 0.08 ^a	721.53 ± 55.69 ^a
1	6.41 ± 0.01 ^b	71.86 ± 1.06	0.985 ± 0.001	10.17 ± 0.04 ^b	400.28 ± 45.07 ^b
2	6.43 ± 0.01 ^b	70.07 ± 0.71	0.984 ± 0.001	12.72 ± 0.06 ^c	317.32 ± 48.61 ^b
3	6.29 ± 0.03 ^{ac}	69.58 ± 0.83	0.989 ± 0.001	13.98 ± 0.01 ^d	363.17 ± 51.14 ^b
4	6.26 ± 0.02 ^c	71.23 ± 0.38	0.986 ± 0.001	12.53 ± 0.47 ^c	352.24 ± 31.07 ^b
5	6.21 ± 0.01 ^d	70.80 ± 0.10	0.987 ± 0.001	12.75 ± 0.09 ^c	302.93 ± 71.36 ^b
6	6.20 ± 0.02 ^d	70.34 ± 0.44	0.988 ± 0.002	13.95 ± 0.18 ^d	359.07 ± 37.77 ^b

Valores promedio ± error estándar
Medias de una misma columna con literales distintos, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Tabla V. Parámetros de color obtenidos para callo de hacha riñón (*Atrina tuberculosa*) durante su almacenamiento a -18°C .

Mes	Valor L*	Valor a*	Valor b*
Control	50.48 ± 0.389	-0.427 ± 0.136 ^a	1.73 ± 0.622
1	53.42 ± 0.388	-0.646 ± 0.223 ^a	3.92 ± 1.107
2	51.86 ± 0.588	-0.279 ± 0.343 ^a	3.88 ± 1.774
3	53.62 ± 0.566	-0.713 ± 0.322 ^a	5.49 ± 1.098
4	52.61 ± 0.584	-0.888 ± 0.279 ^a	4.31 ± 1.367
5	51.87 ± 0.507	-1.339 ± 0.316 ^b	2.58 ± 1.257
6	52.85 ± 0.588	-1.215 ± 0.268 ^b	5.71 ± 1.268

Media de los valores calculados a partir de 10 unidades experimentales ± error estándar.
Medias de una misma columna con literales distintos son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Discusión

Es de esperarse que inicialmente el producto presente una moderada población bacteriana (psicotrónica y mesofílica) por provenir de aguas templadas y mar abierto (Broekaert 2011), lo cual se vio reflejado en la carga inicial bacteriana detectada en la muestra control del callo redondo. Sin embargo, para el callo riñón las concentraciones bacterianas que se detectaron en el producto fresco (control) fueron elevadas, lo cual pudo deberse a diversos factores como: la presencia de una mayor carga bacteriana en el agua de la zona de captura, el mal manejo del producto después de su extracción, el tiempo prolongado entre la extracción y el enfriamiento (arriba a playa) y la contaminación cruzada entre el pescador o utensilios utilizados para extraer el músculo abductor del callo; en el caso específico de *A. tuberculosa*, no fue manipulada adecuadamente por los pescadores, quienes realizaron un desconchado y una limpieza deficientes después de su captura, dado que se pudo observar durante el muestreo que las piezas de callo presentaban restos de vísceras y arena; además, el tiempo transcurrido desde el inicio de la extracción hasta la entrega de la muestra en playa fue mayor para esta especie (siete horas, 40 minutos) que para *A. maura* (cinco horas). Todos estos factores favorecieron o aceleraron el desarrollo de la flora bacteriana (Fig. 2). Actualmente, las Normas Oficiales Mexicanas no especifican un límite máximo de bacterias aerobias en productos marinos; sin embargo, algunos autores hacen referencia a especificaciones internacionales que establecen una concentración límite de 10^6 UFC/g de bacterias psicotrónicas en pescados para consumo humano, ya que a concentraciones de 10^7 - 10^8 UFC/g el producto presenta un deterioro general que es detectable sensorialmente (Massa 2006, Broekaert *et al.* 2011); tomando en cuenta que la composición química de estos productos es similar (Ocaño-Higuera *et al.* 2001), se tomó ese límite permisible como criterio de control de las bacterias psicofílicas, psicotrónicas y mesofílicas aerobias para el callo de hacha. En el caso de la especie *A. maura* (Fig. 1), las concentraciones de los tres tipos de bacterias se mantuvieron

por debajo de los valores límites establecidos como permisibles. Mientras que para *A. tuberculosa* (Fig. 2), solo durante el quinto mes de almacenamiento, las bacterias mesofílicas y psicotrónicas detectadas en esta especie de callo sobrepasaron el límite crítico (6.51 y 6.38 log, respectivamente). Las bacterias producen compuestos volátiles que contribuyen a la formación de sabores y olores desagradables, características asociadas principalmente con el deterioro de los productos marinos (Massa 2006, Broekaert *et al.* 2011). Este deterioro es notorio cuando las bacterias alcanzan valores superiores a los cinco ciclos logarítmicos, por lo que no es recomendado el consumo de estos productos (Massa 2006). Durante los seis meses que las dos especies de callo estuvieron almacenadas a -18°C , las concentraciones de las bacterias productoras de H_2S estuvieron por debajo de este límite crítico, detectándose un valor máximo de 1.6 log para el callo redondo y de 1.3 ciclos logarítmicos para el callo riñón, lo cual indica que el proceso de congelación afectó el desarrollo de estas bacterias, ya que bajo condiciones de refrigeración (4°C), *A. maura* ha presentado cuentas por encima de los tres ciclos logarítmicos desde el tercer día de almacenamiento (Paredes-Aguilar *et al.* 2014), mientras que en el producto fresco de la especie *A. tuberculosa*, se detectó una concentración de 2.93 log de estas bacterias, la cual disminuyó por efecto de la congelación (Fig. 2). Las bacterias del grupo coliformes son utilizadas en la microbiología de alimentos como un indicador de prácticas inadecuadas de higiene en el manejo de alimentos (Feng *et al.* 2010). En México, los moluscos bivalvos tienen que cumplir con ciertas especificaciones normativas para poder ser considerados aptos para el consumo humano (NOM-242-SSA1-2009); específicamente para coliformes fecales se establece un límite máximo de 230 NMP/100 g en su parte comestible; sin embargo, para coliformes totales no hay una especificación límite o criterio sanitario (DOF 2011). Tomando en cuenta los criterios vigentes en la normatividad mexicana para este tipo de producto, los resultados obtenidos indican que, durante el periodo de almacenamiento, el callo de hacha redondo

(*A. maura*) cumplió con la especificación establecida para coliformes fecales; Sin embargo, para el callo de hacha riñón (*A. tuberculosa*) la concentración de coliformes fecales estuvo por encima de este límite permisible durante los seis meses en que el producto estuvo almacenado en congelación (Tabla I). La contaminación inicial detectada en *A. tuberculosa*, pudo deberse a que el producto fue capturado en aguas contaminadas o bien, como se mencionó anteriormente, que el producto fue sometido a una inadecuada limpieza después de su captura y a que el tiempo transcurrido desde su captura hasta el inicio del enfriamiento en playa fue prolongado (siete horas, 40 minutos). Considerando que después de la muerte, ocurren diferentes cambios bioquímicos en los tejidos del organismo, el monitoreo del pH es de suma importancia para determinar la estabilidad y calidad de los productos marinos, lo cual además, está relacionado entre otras cosas, con los atributos de sabor, color y textura (Cabello *et al.* 2004). En este estudio, el pH de las dos especies de callo disminuyó al final de la congelación; no obstante, los valores que se obtuvieron durante los seis meses de almacenamiento se mantuvieron dentro de los límites establecidos como adecuados en la norma oficial mexicana vigente para productos pesqueros (NOM-242-SSA1-2009), la cual establece un intervalo de 6.0-6.5 en el pH de la parte comestible de los moluscos bivalvos. El almacenamiento en congelación al que fueron sometidas las dos especies de callo, pudo favorecer que los valores de pH se mantuvieran en el intervalo permitido. Paredes-Aguilar *et al.* (2014) observaron que cuando *A. maura* fue almacenada a 4 °C durante 16 días, el pH disminuyó de 6.54 a 5.72. Conforme transcurre el almacenamiento de los moluscos, el pH tiende a disminuir como consecuencia de la degradación muscular, favoreciendo la desnaturalización de las proteínas, la pérdida de textura y la disminución en la capacidad de retención de agua, mismos que son indicadores de calidad y que pueden verse afectados por el manejo al que son sometidos los productos una vez capturados (Ocaño-Higuera *et al.* 2001, Cabello *et al.* 2004, Massa 2006). Sin embargo, en este

estudio los resultados demostraron que el descenso que se fue presentando en el pH de las dos especies de callo durante los seis meses que estuvieron sometidos a congelación, no afectó el contenido de humedad ni la actividad de agua de *A. maura* y de *A. tuberculosa*, ya que los valores de estos parámetros durante la congelación no presentaron cambios significativos ($p < 0.05$) con relación al producto en fresco. Con respecto a la textura, la especie *A. maura* tampoco se vio afectada por la congelación ni por el tiempo de almacenamiento a -18°C, puesto que no presentó cambios significativos con respecto al producto fresco ni durante los seis meses en que esta especie de callo estuvo congelada, por lo que el almacenamiento en congelación a -18 °C evitó la pérdida de textura del músculo abductor del callo de hacha redondo, en contraste con otro estudio donde *A. maura* fue almacenada a 4°C durante 16 días, se observó una pérdida de textura de un 27 % (Paredes-Aguilar *et al.* 2014). Para *A. tuberculosa*, la textura solo se vio afectada significativamente ($p < 0.05$) al inicio del estudio, detectándose desde el primer mes en congelación una pérdida de prácticamente el 45 % con respecto al producto fresco (Tabla IV), pero se mantuvo sin cambios significativos ($p < 0.05$) durante los siguientes 5 meses de almacenamiento. En la actualidad, el límite de aceptabilidad de NVT para productos marinos es de 35 mg/100g, pues se considera que los productos pesqueros con contenidos superiores a este valor no son aptos para el consumo humano (Taliadourou *et al.* 2003, Cabello 2004). En México, esta especificación normativa solo es aplicable a pescados frescos, refrigerados y congelados (DOF 2011). Los resultados obtenidos en este estudio para las dos especies de callo (Tabla II y Tabla IV) indican que los valores de NVT estuvieron por debajo del límite permisible establecido para pescados, lo cual es favorable, ya que las bases volátiles son el resultado de la descarboxilación bacteriana de los aminoácidos y se les asocia con el deterioro de los productos marinos (Ocaño-Higuera *et al.* 2001, Cao *et al.* 2009). El retardo en la formación de bases volátiles en estas dos especies de callo fue favorecido por el almacenamiento en congelación, ya que

Paredes-Aguilar *et al.* (2014) observaron que cuando la especie *A. maura* fue almacenada a 4°C, el contenido de NVT sobrepasó el límite normativo a partir de los 14 días de almacenamiento (35.90 ± 2.54 mg/100g); resultados similares fueron observados por Cao *et al.* (2009) en ostras (*Crassostrea gigas*) almacenadas a 5°C, que reportaron niveles de NVT de 35.34 ± 0.64 mg/100g al mismo tiempo de almacenamiento. Para almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosusi*) almacenadas a 0°C durante 15 días, Ocaño-Higuera *et al.* (2001) reportaron valores máximos de 21.4 y 30.7 mg/100g de NVT respectivamente; mientras que para Vieiras (*Pecten maximus*) almacenadas en hielo durante 16 días, Ruiz-Capillas *et al.* (2001) observaron un contenido de 11 mg/100g de nitrógeno amoniacal. Los bajos niveles de NVT detectados en moluscos, en comparación con otras especies de pescados y mariscos, están relacionados con el hecho de que los moluscos bivalvos presentan mayor contenido de carbohidratos (glicógeno) que de compuestos nitrogenados (Cao *et al.* 2009). Los procesos de preservación (enhielado, refrigeración y congelación) también influyen en los cambios de color del músculo de los moluscos bivalvos, lo cual puede verse reflejado en una pérdida de frescura e influir en el valor comercial de los mismos (Cabello *et al.* 2009). Para el callo redondo (*A. maura*), el almacenamiento en congelación provocó pequeños cambios en las tonalidades amarillo-rosáceas del músculo abductor, puesto que al final del almacenamiento (sexto mes) las muestras de callo presentaron una ligera tonalidad amarillo-verdosa. Estos efectos fueron muy semejantes a los obtenidos cuando la misma especie de callo fue almacenada a 4°C durante 16 días, periodo en el cual solo se detectaron ligeros cambios de color que provocaron que el músculo abductor del callo tomara una coloración menos rosácea y se intensificaran un poco las tonalidades amarillosas a partir del tercer día de almacenamiento (Paredes-Aguilar *et al.* 2014). Para *A. tuberculosa*, la congelación también provocó tonalidades verdosas en el músculo abductor durante los últimos meses de almacenamiento

(quinto y sexto mes); sin embargo, las variaciones detectadas entre las unidades experimentales de esta especie de callo fueron tan elevadas que no se encontró ningún tipo de tendencia, ya que a simple vista se pudo distinguir una gran variabilidad entre cada una de las muestras analizadas, y a pesar del número elevado de unidades experimentales utilizadas en el estudio, el error atribuido a la variación entre dichas unidades fue muy alto y no permitió encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Los cambios detectados en el color de las muestras analizadas en este estudio pueden tener relación con lo reportado por Cabello *et al.* (2009), quienes indican que la congelación rápida aplicada inmediatamente después de la captura, puede ayudar a retardar los cambios de color, principalmente los asociados a las tonalidades amarillentas.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio, indican que la congelación es una buena alternativa para la comercialización del callo de hacha, pudiéndose distribuir en lugares más alejados, bajo condiciones de calidad aceptables y con una vida de anaquel prolongada, pues en la actualidad el producto se maneja y distribuye en estado fresco (principalmente enhielado), lo cual limita su comercialización a otros mercados. El almacenamiento a -18°C ayudó a retardar el crecimiento de las bacterias aerobias y la producción de nitrógeno volátil durante los seis meses de estudio, manteniéndose en general niveles por debajo de los límites máximos permitidos, por lo cual se establece que, bajo estas condiciones, este producto puede ser considerado apto para consumo humano. Así mismo, los otros parámetros físicoquímicos indicaron que la calidad del callo de hacha sometido a congelación es muy aceptable, siendo la textura del callo riñón la más afectada al inicio del estudio. Debido a que en el presente estudio no se realizaron pruebas sensoriales, no fue posible inferir si los cambios obtenidos durante el almacenamiento en congelación pudieran ser percibidos por el consumidor y causar algún

tipo de rechazo hacia el producto. La adecuada limpieza del producto, el manejo higiénico y su preservación a bajas temperaturas son muy importantes y determinantes en la calidad del mismo; en este estudio, se demuestra que la calidad inicial y el almacenamiento en congelación fueron factores determinantes en la calidad final de las dos especies de callo de hacha.

Agradecimientos

A la Comunidad y Biodiversidad, A.C. (COBI) por el financiamiento otorgado para la realización del estudio. Agradecemos a dos revisores anónimos que aportaron valiosos comentarios a este trabajo.

Referencias

- AOAC. 2005. Method 925.10. Solids (total) and moisture. Association of Official Analytical Chemists (AOAC international). 18th ed., Maryland, USA.
- Aqualab. 2009. Manual técnico de operación: Water activity meter, series 3. Decagon devices, Inc. Washington, USA.
- Broekaert, K., M. Heyndrickx, L. Herman, F. Devlieghere, & G. Vlaemynck. 2011. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food Microbiology* 28(6): 1162-1169.
- Cabello, A.M., R. Villarroel, B.E. Figuera, M.C. Ramos, Y. Márquez & O.M. Vallenilla. 2004. Parámetros de frescura de moluscos. *Revista Científica* 14(5): 457-466.
- Cao, R., Ch. Xue, Q. Liu & Y. Xue. 2009. Macrobiological, chemical, and sensory assessment of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) stored at different temperatures. *J. Food Sci. Microbiological* 27(2):102-108.
- DOF. 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Secretaría de salud, México. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 12 de diciembre de 1995.
- DOF. 2011. Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. Secretaría de salud, México. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 10 de febrero del 2011.
- FDA. 2010. Bacteriological analytical manual. 8th ed., U.S. Food and Drugs Administration, Department of Health and Human Services, Washington. Consultado en marzo del 2012: www.fda.gov/food/foodscience-research/laboratorymethods/ucm2006949.htm
- Feng, P., S.D. Weagant, M. A. Grant & W. Burkhardt. 2010. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In: *Bacteriological Analytical Manual*. 8th ed., U.S. Food and Drugs Administration, Washington. Consultado en marzo, 2012: www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm
- Koutsoumanis, K., M.C. Giannakourou, P.S. Taoukis & G.J.E. Nychas. 2002. Application of shelf life decision system (SLDS) to marine cultured fish quality. *International Journal of Food Microbiology* 73(2-3): 375-382.
- Massa, A.E. 2006. Cambios bioquímicos *post-mortem* en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Mar de Plata, Argentina.
- Moreno, C., J. Torre, L. Bourillón, M. Durazo, A.H. Weaver, R. Barraza & R. Castro. 2005. Estudio y evaluación de la pesquería de callo de hacha (*Atrina tuberculosa*) en la región de Bahía de Kino, Sonora y recomendaciones para su manejo. Comunidad y Biodiversidad, A.C., Guaymas, Sonora, México. 27pp. Consultado el 12 de junio del 2012: http://cobi.org.mx/wp-content/uploads/2012/08/2005-t-cobi_rep_estudio_eval_callo_hacha_0705.pdf.
- Normark, Ch., M. Olsson & I. Tillander. 2008. Proficiency testing: Food microbiology. Microbiology Division National Food Administration, Sweden, rapport 14, 43 pp.
- Ocaño-Higuera, V.M. 1999. Caracterización parcial del comportamiento bioquímico postmortem y desarrollo de productos a partir del callo de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) de Baja California México. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, México.
- Ocaño-Higuera, V.M., R. Pacheco-Aguilar & A.N. Maeda-Martínez. 2001. Bioquímica postmortem en pectínidos. En: A.N. Maeda-Martínez (Ed.). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa, México. 405-429 pp.
- Paredes-Aguilar, M.C., E.A. Peña-Ramos, L.O. Noriega-Orozco, L.K. Rivero, O.J. Córdova & M.I. Rojo. 2014. Vida de anaquel del músculo abductor de callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) almacenado a 4°C. *Ciencia y Mar* 16(47): 37-46.
- Rodríguez, J.M.C. 2004. Efecto de la temperatura sobre la gametogénesis en el callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (BIVALVIA: PINNIDAE). Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur. 75 pp.
- Ruiz-Capillas, C., W.F.A. Horner & C.M. Gillyon. 2001. Effect of packaging on the spoilage of king scallop (*Pecten maximus*) during chilled storage. *Eur Food*

Res Technol. 213:95-98.

Serrano-Guzmán, S.J. 2004. Análisis prospectivo de las relaciones morfométricas de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) (BIVALVIA: PINNIDAE) en Corralero-Alotengo, Oaxaca, México. *Ciencia y Mar* 8(22): 31-39.

Taliadourou, D., V. Papadopoulos, E. Domvridou, L.N. Savvaidis & M.G. Kontominas. 2003. Microbiological, chemical and sensory changes of whole and filleted Mediterranean aquaculture sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83:1373-1379.

Recibido: 02 de junio de 2017

Aceptado: 22 de enero de 2018